

KAJIAN RESEPTOR GABA PERIFERAL
SECARA IN - VITRO

DISERTASI OLEH:

SAMSABAHARANI BINTI MOHD. NIK

UNTUK MEMENUHI KEPERLUAN
IJAZAH SARJANA SAINS FARMASI
(KEPUJIAN)
UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

Pusat Pengajian Sains Farmasi,
Universiti Sains Malaysia,
Minden,
Pulau Pinang.

Februari, 1983.

Untuk emak dan bapak.

dengan penuh kasih sayang.

PENGHARGAAN

Saya mengucapkan ribuan terima kasih kepada penasihat-penasihat saya, Dr. Aishah binti Abdul Latiff dan Encik Dzulkifkli bin Abdul Razak di atas kesabaran dan tunjuk ajar mereka sepanjang projek ini dijalankan.

Terima kasih juga kepada Encik Hassan, Encik Sobri dan Encik Adnan di atas kerjasama yang diberi kepada saya semasa menjalankan projek ini.

Akhirnya terima kasih yang istimewa untuk kakak saya di atas kesudian beliau menaipkan manuskrip ini.

KANDUNGAN

MUKA SURAT

Abstrak

1. Pengenalan	1
2. Tatacara Percubaan	7
2.3. Dadah-dadah yang digunakan	10
3. Keputusan	11
3.1.1. Dos gerakbalas GABA	11
3.1.2. Kesan bikukulin ke atas gerakbalas GABA	12
3.1.3. Kesan pikrotoksin ke atas gerakbalas GABA	13
3.1.4. Kesan diazepam ke atas gerakbalas GABA	14
3.1.5. Kesan pentobarbiton terhadap diazepam pada reseptor GABA	15
3.1.6. Kesan mepiramin ke atas gerakbalas GABA	15
3.1.7. Kesan striknin ke atas gerakbalas GABA	16
3.1.8. Kesan hiosin ke atas gerakbalas GABA	16
3.1.9. Kesan atropin ke atas gerakbalas GABA	16
3.1.10. Kesan neostigmin ke atas gerakbalas GABA	16
3.1.11. Kesan heksametonium ke atas gerakbalas GABA	17
3.1.12. Kesan propranolol ke atas gerakbalas GABA	17
3.1.13. Kesan fenoksibenzamin ke atas gerakbalas GABA	17
3.1.14. Kesan aspirin ke atas gerakbalas GABA	17
3.1.15. Kesan pentilenetetrazal ke atas gerakbalas GABA	18

KANDUNGAN

MUKA SURAT

3.2.	Sediaan tisu uterus	18
3.3.	Sediaan tisu vas-deferans	18
4.	Perbincangan	19
5.	Kesimpulan	24
6.	Ringkasan (Summary)	25
7.	Appendix:	
	Appendix I	i
	Appendix II	ii
	Appendix III	iii
	Appendix IV	vii
8.	Rujukan	

Abstrak

Asid gamma aminobutirik (GABA) menghasilkan gerakbalas ujaan pada tisu ileum tikus dan argus. Gerakbalas ujaan ini adalah berkadar terus dengan dos GABA sehingga takat maksima dicapai di mana tiada peningkatan di dalam gerakbalas, walaupun dos ditingkatkan.

Gerakbalas GABA ini dihalang oleh pikrotoksin dan bikukulin. Di samping itu, propranolol juga mengantagoniskan gerakbalas GABA dan kemungkinan terdapat hubungan di antara saraf adrenergik dan saraf GABAergik. Aspirin, striknin, hiosin dan mepiramin juga mengantagoniskan gerakbalas ujaan GABA, pada tisu ileum tikus dan argus. Ini menunjukkan terdapat penglibatan prostaglandin, glisin, asetilkolin dan histamin ke atas aktiviti GABA.

Neostigmin meningkatkan gerakbalas GABA pada tisu ileum dan argus. Ini menyokong lagi pendapat bahawa terdapat penglibatan saraf kolinergik terhadap gerakbalas GABA. Diazepam tidak menghasilkan apa-apa kesan terhadap gerakbalas GABA, begitu juga dengan fenoksibenzamin, atropin, heksametonium dan pentilenetetrazol.

Tidak ada gerakbalas GABA yang dikesankan pada tisu vas deferens dan uterus bagi argus dan tikus.

1. PENGENALAN

Sejak asid gamma aminabutrik (GABA) diketahui berada di sistem saraf pusat (SSP) 30 tahun dahulu, fisiologi dan biokimia sistem GABA telah diselidiki dengan mendalamnya (Povl 1981). GABA adalah penghantar rencatan saraf yang utama di SSP (Curtis et. al 1974).

Di sistem saraf pinggir (SSPi), GABA masih diragui bentuk tindakannya sama ada berbentuk rencatan, ujaan atau kedua-duanya sekali. Dari kajian-kajian yang telah dijalankan pada SSPi setakat ini, GABA menghasilkan gerakbalas ujaan di beberapa sediaan tisu pinggir (krantis et. al 1980).

1.1. GABA Di Sistem Saraf Pusat

GABA mempunyai taburan yang berselerak di SSP (Roberts et. al 1976). Orrego (1979) antara lain telah dapat membuktikan kehadiran GABA di SSP.

Keputusan-keputusan dari kajian oleh Orrego (1979) mendapati bahawa GABA disintesis dan disimpan di bilangan penghujung saraf yang terhad. Pelepasan GABA dari penghujung sarafnya, dapat dilihat melalui induksiaan rangsangan elektrik ke atas sediaan in-vitro tisu SSP di dalam keadaan fisiologikal yang lebih kurang sama dengan keadaan in-vivo.

Kompleks ionofor reseptor GABA sama ada di pre atau post-sinaps telah dikenalpastikan. Sistem-sistem pengangkutan dan proses-proses berenzim secara intrasellular untuk terminasi proses transmisi neuron dan bagi pengdeaktifan GABA telah juga difahami.

1.1.1. Reseptor GABA Di Sistem Saraf Pusat

Reseptor GABA di SSP diagakkan terdiri dari tiga jenis tapak ikatan yang berlainan (Krosgaard et. al 1980, Krajevic 1974, Olsen 1981 dan Paul et. al 1981). Reseptor GABA juga berhubung rapat dengan ionofor ionklorida (Cl^-) di SSP (Olsen 1981). Mengikut kajian yang dijalankan oleh Lal et. al (1980) ionofor Cl^- dikawalaturkan oleh reseptor GABA. GABA telah didapati meningkatkan ketelapan ion Cl^- pada selaput neuron yang menyebabkan hiperpolarisasi dan rencatan neuron di dalam kebanyakan kes (J. Weppierre 1980).

Tiga jenis tapak ikatan yang berlainan pada reseptor GABA ialah:

- i. tapak yang mengikat sebatian benzodiazepin;
- ii. tapak yang mengikat antagonis tak kompetitif GABA seperti pikrotoksin;
- iii. tapak yang mengikat avermectin B_1 (Supavilai et. al 1981).

Antara ketiga-tiga jenis tapak ikatan ini, tapak yang mengikat benzodiazepin telah diketahui dengan agak dalamnya.

Benzodiazepin terutamanya dari kumpulan 1,4 - benzodiazepin telah dikatakan dapat memudahkan transmisi GABAergik melalui pengikatan benzodiazepin pada tapaknya (Wise et. al 1972).

Hipotesis lain pula menerangkan bahawa dengan pengikatan benzodiazepin pada tapaknya, ia dapat menggalakkan tindakan GABA dengan mengubahkan perencat endogenus yang biasanya menghadkan pengikatan GABA pada reseptor GABA. Dengan ini, lebih banyak GABA boleh terikat pada reseptornya dan tindakan GABA pun meningkat (Mahler et. al 1979).

1.1.2. Implikasi Tindakan GABA Di Sistem Saraf Pusat

GABA memainkan peranan penting di dalam gangguan neurologikal dan psikiatrik. Banyak penyakit neurologikal dan psikiatrik boleh dikaitkan dengan paras biokimia GABA di SSP.

Misalnya 'Korea Huntington' telah dicirikan dengan generasi GABA yang progresif, di setengah-setengah bahagian otak (Chase et. al 1979).

Di dalam penyakit Parkinson pula, dikatakan terdapat ketidakseimbangan di antara sistem GABA dan dopamin di otak (Lloyd et. al 1977).

Analisis terhadap sampel-sampel tisu berdekatan tapak fokus dari otak pesakit epilepsi, menunjukkan paras enzim glutamat dekarboksilase yang rendah daripada normal dan ini boleh menyebabkan paras GABA rendah di otak (Munari et. al 1981, Bakay et. al 1981, Ribak et. al 1981, Ross et. al 1981).

Pada pesakit skizofrenia, di mana terdapat kekurangan aktiviti GABA di bahagian otak yang tertentu, Perry et. al (1979) memutuskan bahawa GABA memainkan peranan di dalam patofisiologi skizofrenia.

Dari kajian yang telah dijalankan oleh Grandison et. al (1979) dapat ditunjukkan bahawa sistem GABA adalah terlibat dalam pengawalatur beberapa fungsi fisiologikal dan tingkahlaku termasuk tekanan darah, kadarcepat denyutan jantung, tingkahlaku pengambilan makanan dan sifat agresif.

Sungguhpun GABA telah banyak dikaitkan dengan keadaan-keadaan klinikal di SSP, namun sehingga kini mekanisme-mekanisme tindakannya yang lebih tepat masih belum diketahui (Falch et. al 1981). Apa yang jelas adalah GABA mempunyai peranan yang penting sehinggakan sebarang gangguan paras-paras biokimia GABA ataupun penghasilannya di SSP boleh mengakibatkan beberapa implikasi klinikal seperti yang telah dibincangkan.

1.2. GABA Di Sistem Saraf Pinggir

Selain daripada SSP, GABA juga dapat dikesan di SSPi. Walau bagaimanapun secara umumnya terdapat perbezaan di antara bentuk aktiviti GABA di SSPi dan di SSP. Namun, bikukulin dan pikrotoksin di SSPi, masih tetap menunjukkan sifat sebagai antagonis GABA sepertimana di SSPi (Hobbing 1958).

1.2.1. Aktiviti GABA Di Tisu Pinggir

1.2.1.1. GABA Di Saluran Gastro-usus

Neuron-neuron yang mensarafi usus adalah dipercayai berupaya membebaskan beberapa bahan penghantar saraf yang berlainan (Furness dan Costa, 1980). Antaranya ialah saraf-saraf yang boleh membebaskan asetilkolin (Kosterlitz, 1968);
5 - Hidroksitriptamin (Bulberg dan Gershon, 1968,

Costa dan Furness 1979 a) dan substansi P (Franco et. al 1979 a, b). Juga terdapat saraf perencat enterik yang membebaskan substansi yang mungkin dikenal sebagai nukleotida purina (Burnstock, 1972) dan saraf-saraf adrenergik di usus adalah dari jenis ekstrinsik (Furness dan Costa, 1974).

GABA dan asid glutamat dekarboksilase iaitu enzim untuk biosintesisnya telah dibuktikan terdapat di usus dan telah juga ditunjukkan secara pengkulturan setengah dari saraf intrinsik membebaskan GABA (Jessen et. al 1979).

Pada ileum *argus*, GABA memberikan kesan penguncupan (Hobbing 1958). Ini menunjukkan GABA boleh berfungsi sebagai penghantar saraf ujaan di ileum tersebut. Penguncupan GABA ini, walau bagaimanapun dapat dihalang oleh hiosin, iaitu satu antagonis asetilkolin jenis anti-muskarinik. Dengan itu adalah dianggapkan bahawa sistem tindakan GABA ataupun transmisi GABAergik mungkin melibatkan sistem kolinergik, di mana transmisi secara langsung ke atas otot tidak begitu ketara (Krantis et. al 1980).

Sebaliknya dari kajian yang telah dijalankan oleh Ishizawa et. al (1975), penguncupan oleh GABA di usus adalah kerana tindakan-tindakan GABA ke atas reseptornya sendiri atau melalui pelepasan asetilkolin daripada saraf-saraf kolinergik iaitu GABA menggalakkan asetilkolin dikeluarkan di penghujung saraf kolinergik.

1.2.1.2. GABA Di Tisu-Tisu Lain

Dari kajian oleh Starke dan Weitzell (1980) didapati GABA berupaya merencatkan pelepasan noradrenalin di saluran darah pulmonari anab dan kesannya tidak bergantung pada adrenoreseptor alfa (α) dan beta (β).

Pada tisu vars - deferans pula, GABA dilaporkan memberi kesan perencatan, tetapi mekanisme tindakannya tidak diketahui (Bowery et. al 1980).

2. TATACARA PERCUBAAN

2.1. Haiwan

Argus dan tikus sama ada jantan atau betina digunakan di dalam percubaan ini. Berat kedua-duanya mestilah di antara 200 dan 400 g. Haiwan-haiwan ini mestilah sihat dan tidak pernah digunakan untuk tujuan percubaan sebelumnya.

2.2. Kaedah Percubaan

2.2.1. Penyediaan Tisu

- Argus dan tikus dibunuh dengan mengetuk kepalanya sehingga darah keluar. Ileum diambil dan diletakkan ke dalam larutan kreb's yang diubahsuaikan (rujuk Appendix I.1). Gas carbogen mestilah diberikan pada ileum, dan larutan kreb's mestilah ditetapkan suhunya pada 35^oc dengan menggunakan 'water-bath'.

Bahagian Payers Patah yang hampir dengan caecum dibuang. Hujung caecum adalah lebih sensitif terhadap ubat-ubatan dari bahagian atasnya. Dari itu adalah lebih baik menggunakan bahagian bawah ileum di dalam percubaan ini.

Diambilkan lebih kurang 4 - 5 sm ileum dan dengan cermat, buang mesenterinya. Ileum itu perlu dicucikan di bahagian dalamnya, tetapi ini boleh dielakkan dengan menahan binatang itu dari makan semalaman sebelum percubaan.

Kepingan ileum digantungkan di dalam rendaman organ yang berasingan, yang mengandungi 10 ml. larutan kreb's (rujuk Appendix I). Hujung jalur tisu usus diikat pada lantai rendaman dan hujung yang satu lagi diikat dengan benang kepada transducer isotonik. Penguncupan dan pengenduran tisu direkodkan oleh Polygraph Grass. Suhu rendaman organ ditetapkan pada suhu 35^oc menggunakan 'jacketed organ bath'.

Tisu dibiarkan di dalam rendaman organ selama 40 - 60 minit, sebelum penambahan dadah-dadah.

2.2.2. Penambahan Dadah-dadah

2.2.2.1. Masa Sentuhan Dadah dan Pusingan masa bagi Dadah

Oleh kerana percubaan ini dijalankan untuk membandingkan aktiviti-aktiviti dadah ke atas tisu, dan kebanyakan aktiviti-aktiviti dadah adalah disebabkan oleh interaksi molekul-molekul dadah dengan tapak khas dipanggil reseptor pada tisu, adalah mudah untuk merujukkan kepekatan dadah di dalam MOLAR.

Larutan 1 Molar mengandungi berat molekul sesuatu bahan dilarutkan kepada 1 liter larutan. Apabila menambahkan dadah ke dalam tisu, adalah baik untuk menambahkan dengan isipadu yang kecil. Sekiranya, 1 ml sesuatu larutan diperlukan untuk mendapatkan kepekatan yang tertentu di dalam 'organ-bath', maka adalah lebih baik jika ditambahkan 0.1 ml larutan tersebut yang mana ini adalah sepuluh kali ganda kepekataannya.

Di dalam penambahan dadah-dadah, terdapat beberapa peraturan yang perlu diikuti. Kebanyakan tisu, mengambil masa yang pendek untuk penstabilan di dalam keadaan in-vitro dan tidak mungkin dapat menghasilkan gerakbalas-gerakbalas yang konstan terhadap kepekatan-kepekatan yang diberikan secara berulang pada awal percubaan.

Oleh itu, adalah perlu untuk melakukan penambahan dadah beberapa kali pada selang-masa yang sama sehingga gerakbalas yang didapati adalah konstan. Proses ini dipanggil 'sensitization'. Apabila gerakbalas menjadi konstan, adalah perlu menambahkan dadah pada selang-masa tersebut sepanjang percubaan dijalankan.

Untuk percubaan ini, pusingan masa yang diikuti atau dijalankan ialah seperti berikut:

<u>MASA</u>	<u>KAEDAH</u>
15 saat	rekorder dipasang
0 saat	dos dadah ditambah
45 saat	rekorder ditutupkan, kosongkan dan isikan 'organ-bath' dengan larutan kreb's (rujuk Appendix yang baru. Basuh 'bath' beberapa kali (2 - 3 kali adalah baik).
2 min 30 saat	rekorder dipasang
3 min	dos dadah ditambah

Pusingan masa ini memberikan 3 minit pusingan masa dadah dengan masa penyentuhan dadah adalah selama 45 saat.

2.2.2.2. Penambahan Dua Dadah Bersama-sama

Apabila dua dadah ditambahkan bersama-sama, adalah penting untuk mengetahui masa sentuhan bagi tiap-tiap dadah tersebut.

Misalnya, bagi pikrotoksin, masa sentuhannya ialah 45 saat. Oleh itu, ditambahkan GABA setelah 45 saat pikrotoksin ditambahkan kepada tisu. Kemudian, masa penyentuhan GABA dibiarkan selama 45 saat seterusnya pusingan adalah sama seperti pusingan masa bagi GABA.

Untuk dadah-dadah lain yang digunakan di dalam percubaan ini, sila rujuk Appendix II bagi masa penyentuhannya.

2.3. Dadah-dadah

Dadah-dadah yang digunakan ialah asid gamma amino butirik (Sigma Co.), antogonisnya iaitu bikukulin (sigma co. dan pikrotoksin (sigma co.).

Agonis-agonis ialah tablet diazepam (Roche), pentilenetetrazol (Sigma Co.), neostigmin bromida (Liangtraco) dan pentobarbiton (sigma co.).

Antagonis-antagonis ialah aspirin (Liangtraco), atropin sulfat (Penang Farmasi), Fenoksibenzamin (Sigma Co.), heksametonium bromida (Sigma Co.), hiosin hidrobromida (F.E, Zuellig), mepiramin (Sigma Co.), propranolol hidroklorida (Sigma Co.) dan striknik hidroklorida (Sigma Co.).

3. KEPUTUSAN

3.1. Sediaan Tisu Ileum Tikus dan Argus

3.1.1. Dos Gerakbalas Bagi GABA

GABA menunjukkan gerakbalas ujaan pada kedua-dua tisu ileum tikus dan argus, tetapi dos GABA untuk menghasilkan gerakbalas pada kedua-dua tisu ini adalah berbeza.

Tisu ileum argus, adalah lebih sensitif terhadap GABA. Gerakbalas ujaan dihasilkan pada dos 1×10^{-4} M GABA. Gerakbalas meningkat dengan peningkatan dos GABA sehingga pada dos 8×10^{-4} M di mana gerakbalasnya adalah maksima. Apabila dos ditingkatkan lagi kepada 1.6×10^{-3} M, gerakbalas yang dihasilkan adalah sama dengan gerakbalas-gerakbalas yang didapati pada dos 3×10^{-4} M (rujuk Rajah 1).

Bagi tisu ileum tikus pula, hanya pada dos 1×10^{-5} M dapat dilihat gerakbalas ujaan oleh GABA. Gerakbalas maksima dicapai pada dos 8×10^{-5} M (rujuk Rajah 3).

Dos submaksima ialah dos yang memberikan 60 - 80% gerakbalas daripada gerakbalas maksima. Dos submaksima bagi GABA untuk sediaan tisu ileum argus ialah 4×10^{-4} M. Dos-dos ini digunakan untuk percubaan seterusnya.

Untuk menunjukkan dengan lebih jelas lagi hubungan di antara gerakbalas GABA dengan dos, graf peratus gerakbalas GABA melawan log dos GABA diplotkan bagi kedua-dua tisu ileum argus (rujuk Rajah 2) dan tisu ileum tikus (rujuk Rajah 4). Daripada graf ini dapat dilihat dengan jelas bahawa gerakbalas meningkat dengan dos sehingga

mencapai takat maksima, di mana selepas takat ini tidak terdapat peningkatan di dalam gerakbalas GABA walaupun dosnya ditambahkan.

3.1.2. Kesan Bikukulin Ke Atas Gerakbalas GABA

3.1.2.1. Kesan Dos Bikukulin Yang Berlainan Terhadap Gerakbalas GABA

Dengan kehadiran bikukulin, GABA tidak dapat menunjukkan gerakbalas ujaannya pada kedua-dua tisu ileum tikus (rujuk Rajah 6) dan tisu ileum argus (rujuk Rajah 5).

Sama ada dengan dos bikukulin yang tinggi (1×10^{-5} M), mahupun dos yang rendah (1×10^{-6} M) GABA tetap tidak menghasilkan gerakbalas. Dos-dos yang digunakan pada ileum argus dan ileum tikus adalah sama. Ini bermakna, bikukulin adalah sensitif pada kedua-dua tisu ileum dengan dos yang tidak berbeza.

3.1.2.2. Kesan Dos 1×10^{-5} M Bikukulin Ke Atas Dos Gerakbalas GABA

Apabila dos bikukulin ditetapkan pada dos 1×10^{-5} M, peningkatan dos GABA tidak juga dapat menghasilkan gerakbalas ujaan bagi kedua-dua sediaan tisu ileum (ileum argus: rujuk Rajah 8, ileum tikus: rujuk Rajah 10).

Keputusan ini menunjukkan, pada semua dos GABA yang dikaji, bikukulin tetap memberi halangan yang sama dan tidak bergantung pada dos GABA yang digunakan.

3.1.3. Kesan Pikrotoksin Ke Atas Gerakbalas GABA

3.1.3.1. Kesan Dos Pikrotoksin Yang Berlainan Terhadap Gerakbalas GABA

Rencatan gerakbalas GABA oleh pikrotoksin adalah berkadarterus dengan dos pikrotoksin. Jika dos pikrotoksin tinggi, rencatan gerakbalas GABA juga tinggi.

Pada dos pikrotoksin yang rendah iaitu 1×10^{-6} M, untuk ileum argus rencatan gerakbalas GABA ialah sebanyak $34.2\% \pm 5.62$ dan bagi ileum tikus rencatan gerakbalas GABA ialah sebanyak $61.1\% \pm 5.62$.

Manakala pada dos pikrotoksin yang tinggi iaitu 1×10^{-4} M, rencatan gerakbalas GABA bagi ileum argus ialah sebanyak $100\% \pm 0$ (rujuk Appendix III.2b dan Rajah 13).

Keputusan ini menunjukkan terdapat perbezaan kesensitifan terhadap pikrotoksin di antara tisu ileum argus dan ileum tikus. Dos pikrotoksin di mana rencatan gerakbalas GABA adalah sempurna adalah sama bagi ileum tikus dan argus. Tetapi, pada dos 1×10^{-6} M pikrotoksin, ileum tikus adalah lebih sensitif terhadap tindakan antagonis pikrotoksin, berbanding dengan ileum argus.

Apabila graf peratus rencatan gerakbalas GABA oleh pikrotoksin melawan log dos pikrotoksin diplotkan, ianya jelas menunjukkan bahawa rencatan terhadap gerakbalas GABA oleh pikrotoksin adalah berkadarterus dengan dos pikrotoksin. Ini disimpulkan dari bentuk graf yang linear untuk kedua-dua sediaan tisu ileum

argus (rujuk Rajah 12) dan ileum tikus (rujuk Rajah 14).

3.1.3.2. Kesan Dos 1×10^{-5} M Pikrotoksin
Terhadap Dos Gerakbalas GABA

Bagi sediaan tisu ileum argus, dos gerakbalas GABA bersama kehadiran pikrotoksin (rujuk Rajah 16) adalah lebih rendah daripada dos gerakbalas GABA tanpa pikrotoksin (rujuk Rajah 15). Apabila graf peratus gerakbalas GABA dalam kehadiran pikrotoksin melawan log dos GABA dan peratus gerakbalas GABA tanpa pikrotoksin melawan log dos diplotkan bersama, bentuk graf adalah sama. Walau bagaimanapun graf peratus gerakbalas GABA dalam kehadiran pikrotoksin adalah lebih dikisar ke kanan dari gerakbalas GABA tanpa pikrotoksin (rujuk Rajah 17).

Keputusan yang sama juga didapati bagi sediaan tisu ileum tikus (rujuk Rajah 18, 19 dan 20). Daripada keputusan-keputusan ini, didapati pikrotoksin bertindak seolah-olah sebagai antagonis kompetitif bagi GABA.

3.1.4. Kesan Diazepam Terhadap gerakbalas GABA

Dari keputusan percubaan, didapati bahawa diazepam tidak mendatangkan apa-apa kesan terhadap gerakbalas ujaan GABA pada ileum argus, walaupun dos diazepam ditingkatkan sehingga pada dos 1×10^{-8} M (rujuk Rajah 21).

Percubaan untuk mengkaji kesan diazepam terhadap gerakbalas GABA bagi sediaan tisu ileum tikus tidak dijalankan.

3.1.5. Kesan Pentobarbiton Terhadap Diazepam Pada Reseptor GABA

Daripada keputusan, Pentobarbiton tidak mempengaruhi kesan diazepam terhadap gerakbalas GABA, iaitu gerakbalas GABA tidak digalakkan atau direncatkan dengan penambahan pentobarbiton (rujuk Rajah 23).

Kesan pentobarbiton pada gerakbalas GABA telah diujikan sebelumnya, dan didapati pentobarbiton tidak mendatangkan apa-apa kesan pada gerakbalas GABA (rujuk Rajah 22b). Pentobarbiton juga, tidak mendatangkan apa-apa kesan terhadap gerakbalas diazepam (rujuk Rajah 22a).

Semua percubaan ini dijalankan ke atas ileum argus, percubaan ke atas ileum tikus tidak dijalankan.

3.1.6. Kesan Mepiramin Ke Atas Gerakbalas GABA

Mepiramin merencatkan gerakbalas GABA pada tisu ileum argus (rujuk Rajah 24) dan tisu ileum tikus (rujuk Rajah 25).

Semakin tinggi dos mepiramin, semakin rendah gerakbalas GABA yang dihasilkan.

Pada kedua-dua tisu ileum tikus dan argus, mepiramin dalam dos 1×10^{-6} M dapat menghapuskan aktiviti ujaan GABA. Tiada perbezaan dari segi kesensitifan terhadap mepiramin di antara ileum tikus dan argus.

3.1.7. Kesan Striknin Terhadap Gerakbalas GABA

Striknin merencatkan gerakbalas GABA pada ileum argus (rujuk Rajah 26) dan ileum tikus (rujuk Rajah 27).

Pada dos 1×10^{-4} M, striknin menghapuskan secara langsung gerakbalas GABA pada kedua-dua tisu ileum tikus dan argus.

3.1.8. Kesan Hiosin Terhadap Gerakbalas GABA

Dari percubaan yang dijalankan, hiosin mempunyai kesan rencatan terhadap gerakbalas GABA pada kedua-dua tisu ileum. Pada dos 1×10^{-5} M, hiosin menghapuskan aktiviti GABA pada tisu ileum tikus (rujuk Rajah 29) dan tisu ileum argus (rujuk Rajah 28).

3.1.9. Kesan Atropin Ke Atas Gerakbalas GABA

Atropin tidak mempengaruhi gerakbalas GABA pada sediaan tisu ileum argus dan tisu ileum tikus, walaupun dos atropin ditingkatkan sehingga kepada 1×10^{-7} M pada tisu ileum tikus (rujuk Rajah 31) dan 1×10^{-6} M pada tisu ileum argus (rujuk Rajah 30).

3.1.10. Kesan Neostigmin Terhadap Gerakbalas GABA

Daripada keputusan yang didapati, neostigmin meningkatkan aktiviti ujaan GABA pada sediaan tisu ileum argus. Tetapi, peningkatan ini tidak begitu ketara dan dengan peningkatan dos neostigmin kepada 1×10^{-3} M, gerakbalas GABA tidak lagi ditingkatkan (rujuk Rajah 32).

Percubaan ke atas sediaan tisu ileum tikus tidak dijalankan.

3.1.11. Kesan Heksametonium Terhadap Gerakbalas GABA

Gerakbalas ujaan GABA tidak dipengaruhi oleh heksametonium pada kedua-dua tisu ileum, walaupun dos heksametonium ditingkatkan sehingga kepada 1×10^{-6} M bagi ileum tikus (rujuk Rajah 34) dan 1×10^{-5} M bagi ileum argus (rujuk Rajah 33).

3.1.12. Kesan Propranolol Terhadap Gerakbalas GABA

Pada dos 1×10^{-6} M, propranolol menunjukkan kesan rencatan terhadap gerakbalas GABA. Semakin dos propranolol ditingkatkan, semakin tinggi kesan perencatan terhadap gerakbalas GABA, sehinggalah pada dos 1×10^{-4} M, propranolol menghalang aktiviti ujaan GABA pada tisu ileum argus (rujuk Rajah 35) dan tisu ileum tikus (rujuk Rajah 36).

3.1.13. Kesan Fenoksibenzamin ke Atas Gerakbalas GABA

Tiada kerendahan atau peningkatan gerakbalas GABA apabila fenoksibenzamin ditambahkan kepada tisu ileum argus (rujuk Rajah 37) dan tisu ileum tikus (rujuk Rajah 38) sebelum penambahan GABA, walaupun dos fenoksibenzamin ditingkatkan.

3.1.14. Kesan Aspirin Ke Atas Gerakbalas GABA

Aspirin merencatkan gerakbalas GABA pada kedua-dua sediaan tisu ileum, sehinggalah pada dos 1×10^{-6} M bagi ileum argus dan 1×10^{-7} M bagi ileum tikus di mana aktiviti GABA dihapuskan dengan sepenuhnya oleh propranolol (ileum argus: rujuk Rajah 39, ileum tikus: rujuk Rajah 40).

3.1.15. Kesan Pentilenetetrazol Terhadap Gerakbalas GABA

Daripada keputusan yang diperolehi, pentilenetetrazol tidak mempunyai apa-apa kesan terhadap gerakbalas GABA pada tisu ileum argus (rujuk Rajah 41).

Percubaan ke atas tisu ileum tikus tidak dijalankan.

3.2. Sediaan Tisu Uterus Tikus dan Argus

GABA tidak menunjukkan apa-apa kesan pada tisu uterus tikus dan argus. Apabila pikrotoksin ditambahkan pada tisu uterus tikus dan argus sebelum penambahan GABA, tidak terdapat juga gerakbalas GABA. GABA di dalam kehadiran bikukulin masih juga tidak menunjukkan apa-apa kesan terhadap kedua-dua tisu uterus tikus dan argus.

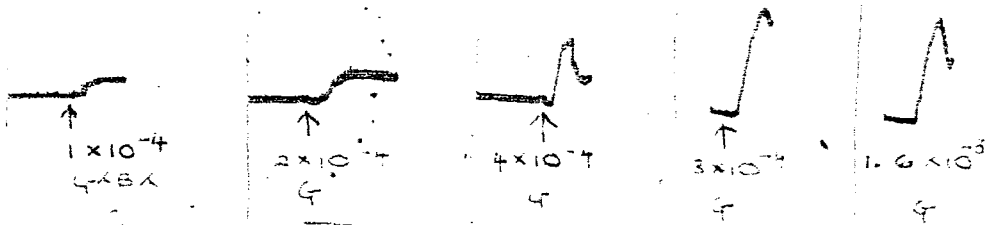
Percubaan untuk mengkaji kesan dadah-dadah lain terhadap gerakbalas GABA pada tisu uterus tikus dan argus tidak dijalankan.

Dalam percubaan ini, larutan yang digunakan ialah larutan de Jalon's (rujuk Appendix I.2).

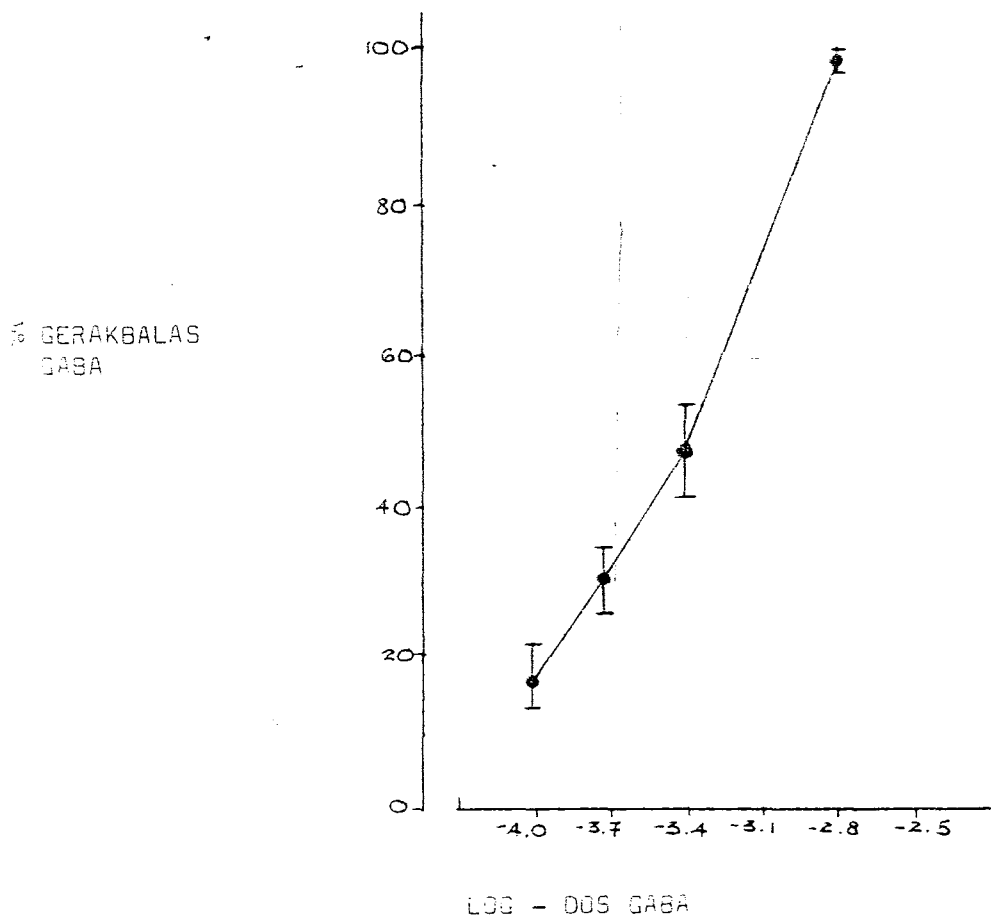
3.3. Sediaan Tisu Vas Deferans Tikus dan Argus

GABA tidak menunjukkan apa-apa kesan pada tisu vas deferans tikus dan argus. Di dalam kehadiran pikrotoksin atau bikukulin, GABA tetap tidak menunjukkan apa-apa kesan pada sediaan tisu vas deferans tikus dan argus.

Percubaan untuk mengkaji kesan dadah-dadah lain terhadap gerakbalas GABA pada tisu vas deferans tikus dan argus tidak dijalankan.



RAJAH 1: DOS GERAKBALAS GABA BAGI ILEUM ARGUS. GERAKBALAS UJIAN GABA MENINGKAT DENGAN PENINGKATAN DOS.



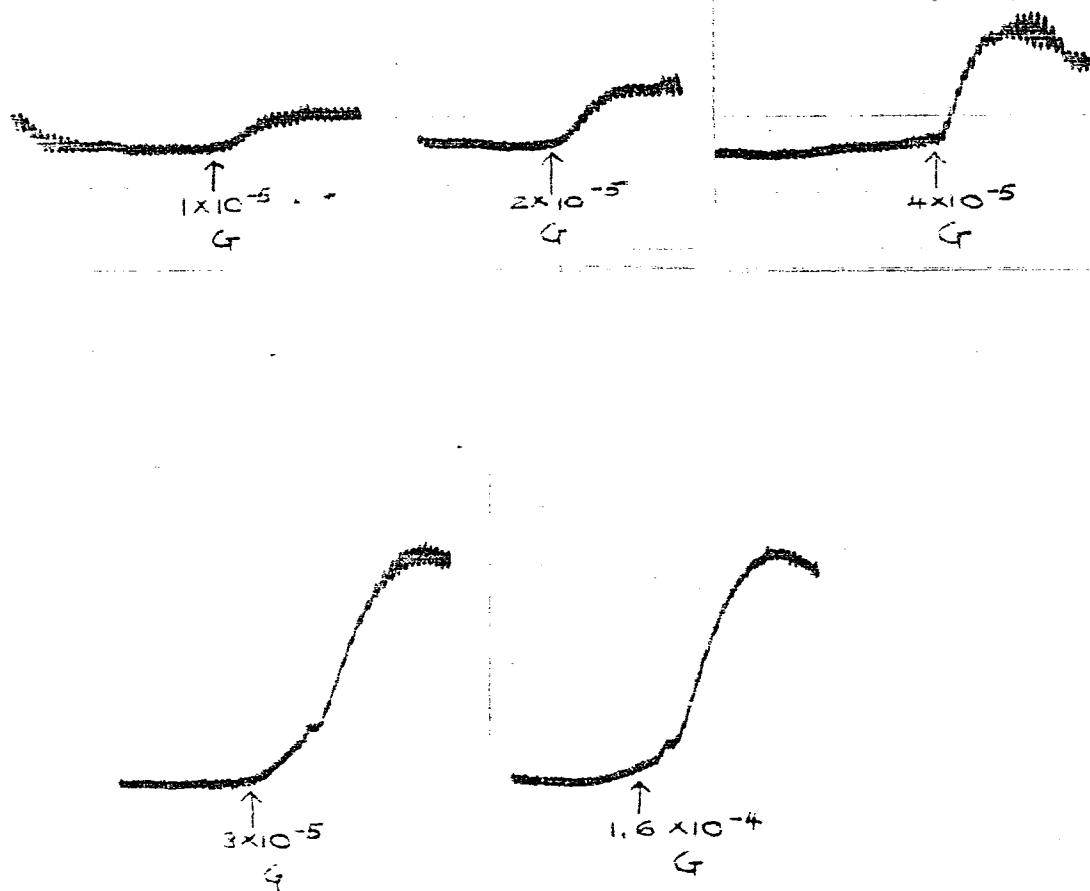
RAJAH 2: % GERAKBALAS GABA MELAWAN LOG DOS GABA BAGI ILEUM ARGUS.

DATA 1

DOS GERAKBALAS GABA BAGI
SEDIAAN TISU ILEUM ARGUS

DOS GABA (MOLAR)	LOG DOS GABA	GERAKBALAS GABA (sm)*	% GERAKBALAS GABA*
1×10^{-4}	-4.0	0.28 ± 0.05	17.4 ± 3.98
2×10^{-4}	-3.7	0.55 ± 0.09	29.5 ± 4.46
4×10^{-4}	-3.4	0.78 ± 0.08	46.7 ± 6.23
8×10^{-4}	-3.1	1.65 ± 0.15	100.0 ± 0.0
16×10^{-4}	-2.8	1.63 ± 0.14	98.6 ± 1.40

* Nilai-nilai adalah berdasarkan kepada empat percubaan yang
dijalankan (rujuk Appendix III.1a).



RAJAH 3: DOS GERAKBALAS GABA BAGI ILEUM TIKUS. GERAKBALAS UJAJAN GABA DITINGKATKAN DENGAN PENINGKATAN DOS.

DATA 2

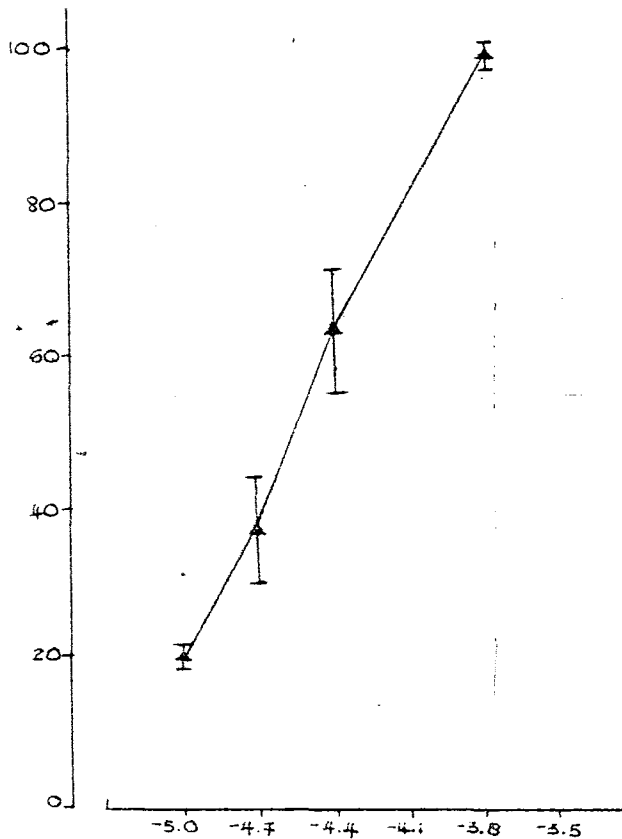
DOS GERAKBALAS GABA BAGI
SEDIAAN TISU ILEUM TIKUS

DOS GABA (MOLAR)	LOG DOS GABA	GERAKBALAS GABA ¹ (μ m)*	% GERAKBALAS GABA*
1×10^{-5}	-5.0	0.65 ± 0.06	19.6 ± 1.29
2×10^{-5}	-4.1	1.20 ± 0.22	37.1 ± 6.67
4×10^{-5}	-4.4	2.00 ± 0.54	62.6 ± 7.78
3×10^{-5}	-4.1	3.18 ± 0.12	100.0 ± 0.0
16×10^{-5}	-3.8	3.13 ± 0.13	98.4 ± 0.92

* Nilai-nilai adalah berdasarkan kepada empat percubaan
(Rujuk Appendix III.2a).

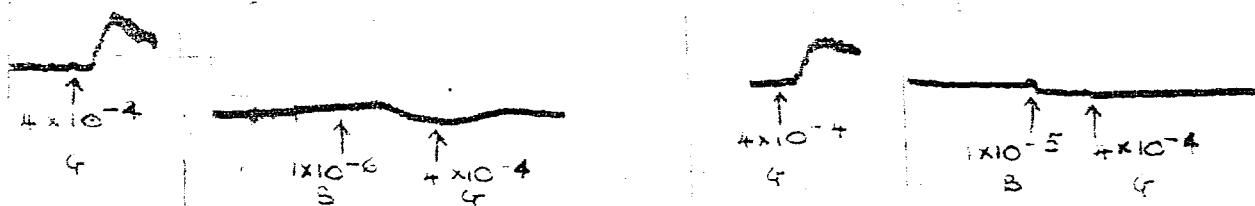
HADIAH

% GERAKBALAS
GABA



LOG DOS GABA

Rajah 4: % GERAKBALAS GABA MELAWAN LOG DOS GABA BAGI ILEUM
TIKUS. BENTUK GRAF DENGAN JELAS MENUNJUKKAN %
GERAKBALAS YANG MENINGKAT SEHINGGA MENCAPAI
MAKSIMA. TIADA PENINGKATAN GERAKBALAS GABA
SELEPAS TAKAT MAKSIMA INI.



RAJAH 5: KESAN DGS BIKUKULIN YANG BERLAINAN (1×10^{-5} M dan 1×10^{-6} M) KE ATAS GERAKBALAS GABA PADA SEDIAAN TISU ILEUM ARGUS. BIKUKULIN MENGHALANGKAN AKTIVITI GABA.